

## T84-celler | 300354

## Generell informasjon

<b>Description</b>	Denne linjen viser tette overganger og desmosomer mellom tilstøtende celler. Cellene bør holdes ved høy tetthet (minst 1/4 konfluens).
<b>Organism</b>	Menneskelig
<b>Tissue</b>	Colon
<b>Disease</b>	Karsinom
<b>Metastatic site</b>	Lunge
<b>Applications</b>	Forskning på tykktarmskreft; tarmepitelbiologi; studier av tette forbindelser og barrierefunksjon; transportfysiologi i tykktarmen; forskning på cystisk fibrose-transmembran-konduktansregulator (CFTR); legemiddelabsorpsjon og -metabolisme; xenotransplantasjonsmodeller
<b>Synonyms</b>	T-84, T 84

## Kjennetegn

<b>Age</b>	72 år
<b>Gender</b>	Mann
<b>Ethnicity</b>	Etnisk tilhørighet ikke angitt
<b>Morphology</b>	Epitel-lignende
<b>Cell type</b>	Epitelceller
<b>Growth properties</b>	Vedhengende

## Regulatoriske data

<b>Citation</b>	T84 (Cytion-katalognummer 300354)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606

## T84-celler | 300354

**CellosaurusAccession** CVCL\_0555**GMO Status** Ingen genetisk modifisering; villtype-cellelinje for tykktarmskreft (den heterozygote KRAS G13D-mutasjonen er en endogen somatisk forandring, ikke en genteknologisk modifisering)**Biomolekylære data****Receptors expressed** Peptidhormon, neurotransmitter**Antigen expression** Keratin + (immunoperoksidase-farging)**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2**Tumorigenic** Ja, i nakne mus**Products** Karsinoembryonalt antigen (CEA), 600 ng/ml per 10 eksp6 celler per 10 dager, keratin**Mutational profile** T84-celler bærer en heterozygot Kras-mutasjon i kodon13: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)**Karyotype** Det modale kromosomtallet i stamlinjen er 56, og forekommer i 28 % av tilfellene, med polyploidi i 12,4 %. Atten markører er felles for de fleste metafasene som ble undersøkt. Normal x og kromosom 13 var fraværende, kromosom 2, 4 og 22 var enkeltkopiert, og kromosom 12 var 4-kopiert. DM forekom i nesten 50 % av cellene.**Håndtering****Culture Medium** Ham's F12, m: 1,0 mM stabil glutamin, m: 1,0 mM natriumpyruvat, m: 1,1 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820600a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** ca. 48 til 72 timer

## T84-celler | 300354

**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

**Split ratio** 1 til 3

**Seeding density** 1 til  $2 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup> (opprethold minst 1/4 konfluens for å bevare fenotypen til tette forbindelser)

**Fluid renewal** 2 ganger per uke

**Post-Thaw Recovery** Etter optining skal cellene sås med en tetthet på  $5 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup> og få minst 24-48 timer til å feste seg. Cellene skal holdes ved høy tetthet ( $\geq 25$  % konfluens) for å opprettholde dannelsen av tette forbindelser.

**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmibeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

## T84-celler | 300354

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## T84-celler | 300354

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

### STR-profil

**CSF1PO:** 10  
**D13S317:** 9  
**D16S539:** 10,11  
**D5S818:** 12  
**D7S820:** 8,10  
**TH01:** 6,9  
**TPOX:** 8  
**vWA:** 17,18  
**D3S1358:** 19  
**D21S11:** 31  
**D18S51:** 17  
**Penta E:** 14  
**Penta D:** 9  
**D8S1179:** 15  
**FGA:** 24

### HLA-alleler

**A\*:** '02:01:01, '24:02:01  
**B\*:** '18:01:01, '35:01:01  
**C\*:** '04:01:01, '07:01:01  
**DRB1\*:** '01:01:01, '09:01:02  
**DQA1\*:** '01:01:01, '03:02:01  
**DQB1\*:** '03:03:02, '05:01:01  
**DPB1\*:** '02:01:02, '04:01:01  
**E:** '01:03:01, '01:03:02